


# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

---



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung



**Aktenzeichen:** 103 09 211.0

**Anmeldetag:** 28. Februar 2003

**Anmelder/Inhaber:** Leica Mikrosysteme GmbH, Wien/AT

**Bezeichnung:** Vorrichtung und Verfahren zur immunologischen  
Markierung für Gewebedünnschnitte

**IPC:** G 01 N, B 01 L



**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 15. Dezember 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
Der Präsident  
Im Auftrag

**Agurke**

**Vorrichtung und Verfahren zur immunologischen Markierung für  
Gewebedünnschnitte**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur immunologischen Markierung für Gewebedünnschnitte. Im besonderen betrifft die Erfindung eine

5 Vorrichtung zur immunologischen Markierung von Gewebedünnschnitten, mit einer Trägerplatte, auf der die Gewebedünnschnitte in einem definierten Muster angebracht sind, mit mindestens einem Objektträger, auf dem die Behandlungsflüssigkeit in Form von Flüssigkeitstropfen aufgebracht ist und wobei die

10 Anordnung der Flüssigkeitstropfen der Anordnung der Gewebedünnschnitte auf der Trägerplatte entspricht.

Ferner betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur immunologischen Markierung für Gewebedünnschnitte.

Um die Struktur von biologischen Proben, wie Geweben oder Zellen im Elektronenmikroskop oder hoch auflösenden optischen Mikroskopmethoden untersuchen zu können, werden Ultradünnschnitte von nur wenigen nm Dicke angefertigt, die auf Objektträgernetze aus Metall (im folgenden als Metallnetzchen bezeichnet), bevorzugt aus dem Metall Nickel aufgebracht werden. Für die mikroskopische Untersuchung werden die Schnitte kontrastiert oder durch

15 spezielle oder cytochemische Verfahren einzelne Bestandteile der Probe markiert. Häufig beruhen diese cytochemischen Verfahren auf dem Prinzip der

20 Ligandenpaarbildung, wobei ein erster Ligand in der biologischen Probe enthalten sein kann und der zweite Ligand dann, wenn er mit dieser Probe in Kontakt kommt, als Bindungspartner an den ersten Ligand bindet. Beispiele für Ligandenpaare auf biologischer Basis stellen Antigen/Antikörper-

25 Bindungspaare, Enzym/Substrat- Bindungspaare, Lektine/Zucker, Hormon/Rezeptor-Systeme, DNA/DNA- und DNA/RNA-Paare dar.

Im Stand der Technik sind zahlreiche Verfahren bekannt, bei denen das Antigen/Antikörper-Bindungspaar beteiligt ist, sie werden unter dem Begriff der Immunhisto- und Immuncytochemie zusammengefasst (im folgenden als immunologische Markierungstechniken bezeichnet). Das US-Patent 5,143,714 offenbart beispielsweise ein Verfahren, das ein Antigen aus einer flüssigen Probe in einer pelletierbaren Gelsubstanz adsorbiert. Das Gelpellet wird mit einer Diffusionsbarriere umgeben, als Block in eine ausgestanzte Gelmatrix integriert und im Folgenden wie eine Gewebeprobe immunologischen Markierungstechniken unterzogen. Die DE 38 78 167 T2 beschreibt die Verwendung von kolloidalen Goldteilchen zur Markierung von Liganden in der Immunogold Staining Technique. Ein stark verbessertes Verfahren, das die qualitative und quantitative Auswertung eines Antigens in einer Probe erlaubt, offenbart das US-Patent 5,079,172 mit einem Sandwich-Assay, indem der das Antigen bindende erster Antikörper mit einem Gold markierten zweiten Antikörper, der den ersten Antikörper bindet, markiert wird. Im elektronenmikroskopischen Auswerteverfahren kann anhand der Menge der Goldpartikel das Antigen der Probe qualitativ und quantitativ ermittelt werden.

Vielen Protokollen der Immunhisto- und Immuncytochemie zur immunologischen Markierung von Gewebedünnschnitten ist gemeinsam, dass sie meist aus 10 bis 20 einzelnen Prozessschritten bestehen. Zu einem Großteil bestehen die Prozessschritte aus Waschvorgängen der zu untersuchenden Probe mit Puffer- oder Markierungslösung.

Diese Waschvorgänge werden derzeit in einem aufwendigen Prozess manuell durchgeführt, wobei mit einer Pipette einzelne Tropfen der wässrigen Puffer- oder Markierungslösung auf eine hydrophobe Unterlage (z.B. Parafilm®, Parlodion®, Colloidion oder Formfan®) aufgebracht werden. Die Metallnetzchen mit den Gewebedünnschnitten werden nach unten einzeln darauf gelegt, um mit der Behandlungsflüssigkeit zu reagieren. Wegen des geringen Gewichts des Metallnetzchens und der Oberflächenspannung des Flüssigkeitstropfen, schwimmt das Metallnetzchen dabei auf der Tropfenoberfläche. Nach einer bestimmten Verweildauer für diesen Schritt (häufig 5-10 min) wird das Metallnetzchen mit einer Pinzette zum nächsten Tropfen weiter transportiert. Dieser Vorgang wird bis zur letzten Position des Standardprotokolls fortgeführt und

bindet eine Arbeitskraft bis zu mehreren Stunden pro immunologischer Markierungsreaktion.

- Es ist leicht ersichtlich, dass dieser manuelle Prozess kontinuierliche Aufmerksamkeit des Arbeitspersonals fordert und durch den großen Zeitaufwand hohe Arbeitskosten mit sich bringt. Die Zahl der gleichzeitig zu bearbeitenden Proben ist stark limitiert und Fehler seitens des Arbeitspersonals beim exakten Pipettieren und Positionieren der Flüssigkeitstropfen mit kleinsten Volumina nicht auszuschließen. Das manuelle Verfahren kann eine Verwechslung der Proben nach der langen Behandlungszeit während der immunologischen Markierung nicht ausschließen, dies könnte durch Verwendung eines Proben-trägers mit Kennzeichnung in Form eines Chips oder Barcodes, wie es in dem Gebrauchsmuster DE 299 06 382 U1 dargestellt ist, verhindert werden.

Zusätzlich stellt die Verdunstung der Flüssigkeitstropfen bei länger dauernden Standardprotokollen ein großes Problem dar.

- Zwar offenbart das Gebrauchsmuster DE 298 17 912 U1 eine Vorrichtung zum Waschen von mikroskopierbaren Präparaten auf Trägern nach immunocytochemischer Behandlung, allerdings handelt es sich hierbei um eine Waschbox in der eine größere Menge an Waschlösung mit einer gewissen Strömungsgeschwindigkeit über Präparat und Träger hindurchströmt. Für die Durchführung von immunologischen Markierungstechniken selber ist diese Vorrichtung nicht geeignet, da die verwendeten antikörperhaltigen Markierungslösungen sehr teuer sind und daher nur in möglichst geringen Volumina eingesetzt werden.

- Bisher ist keine Vorrichtung und kein Verfahren bekannt, das den Vorgang der Durchführung von immunologischen Markierungstechniken für Gewebedünnschnitte vollautomatisch durchführt.

- Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten bereitzustellen, die es erlaubt effektiv, nach einem individuell erstellbaren Protokoll vollautomatisch und ohne eine Intervention der Bedienperson mehrere Gewebedünnschnitte in reproduzierbarer Qualität gleichzeitig behandelt.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß mit einer Vorrichtung gelöst, die die Merkmale Anspruchs 1 umfasst.

- 5 Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es ein Verfahren zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten bereitzustellen, das es erlaubt effektiv, nach einem individuell erstellbaren Protokoll vollautomatisch und ohne eine Intervention der Bedienperson mehrere Gewebedünnschnitte in reproduzierbarer Qualität gleichzeitig zu behandeln.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß mit einem Verfahren gelöst, das Merkmale des Anspruchs 14 umfasst.

- 10 Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist besonders vorteilhaft, da die Vorrichtung mit einer Trägerplatte versehen ist, auf der die Gewebedünnschnitte in einem definierten Muster angebracht sind. Ferner ist mindestens ein Objektträger vorgesehen, auf dem die Behandlungsflüssigkeit in Form von Flüssigkeitstropfen aufgebracht ist und wobei die Anordnung der Flüssigkeitstropfen  
15 der Anordnung der Gewebedünnschnitte auf der Trägerplatte entspricht. Jeder der Objektträger, der mit Flüssigkeitstropfen versehen ist, ist in einem Transportbehälter eingebracht. Der Transportbehälter ist in Form einer Wanne ausgebildet, wobei die Wanne aus einer umlaufenden Wandung besteht, die durch einen Boden abgeschlossen ist. Dabei ist der Boden (50) eines  
20 Transportbehälters der Deckel eines darunter angeordneten Transportbehälters. Die Transportbehälter sind in einem ersten und einem zweiten Vorrat (20, 21) gestapelt. Die Stapelung der Transportbehälter ist von besonderen Vorteil, da dadurch ein Verdunsten der auf dem Objektträger aufgetragenen Flüssigkeitstropfen verhindert ist. Um einen gewissen Feuchtigkeitspegel in  
25 dem abgeschlossenen Raum um den Objektträger zu gewährleisten ist ein Feuchtigkeit abgebendes Mittel in dem Transportbehälter eingelegt.

- Im ersten Vorrat sind die Transportbehälter gestapelt, die jeweils einen Objektträger tragen der mit einer Vielzahl von Flüssigkeitstropfen versehen ist und noch nicht mit dem Gewebedünnschnitten auf der Trägerplatte in Kontakt  
30 gebracht worden ist. Im zweiten Vorrat sind die Transportbehälter gestapelt, die jeweils einen Objektträger tragen, der bereits mit den Gewebedünnschnitten auf der Trägerplatte in Kontakt gebracht worden ist. Diese Objektträger

sind verbraucht und werden zusammen mit den Transportbehälter im zweiten Vorrat gestapelt bis der gesamte Behandlungsprozess abgeschlossen ist. nach Abschluss des Behandlungsprozesses können die Transportbehälter und/oder die Objektträger für die spätere Verwendung einem Reinigungsprozess unterzogen werden.

Auf der Trägerplatte sind mehrere Metallnetzchen aufgebracht, so dass sich die Anzahl der gleichzeitig zu bearbeitenden Proben oder Gewebedünnschnitte deutlich erhöht. Zur Behandlung der Gewebedünnschnitte werden nacheinander die Transportbehältern vorgesehenen Objektträger, gemäß dem individuellen Behandlungsprozess erforderlichen Ablauf, mit der Trägerplatte in definierten Kontakt gebracht, so dass die Gewebedünnschnitte mit der Behandlungsflüssigkeit benetzt werden. Hierzu gilt es gegenüber der Trägerplatte den erforderlichen Objektträger in die Behandlungsposition zu verfahren.

Die Vorrichtung besitzt weiter den Vorteil, dass sie aus einem Eingabeabschnitt, einem Vorratsabschnitt und einem Behandlungsabschnitt aufgebaut ist. Ein Transportmechanismus fährt zwischen dem Vorratsabschnitt und dem Behandlungsabschnitt hin und her, um einen Transportbehälter vom Vorratsabschnitt zum Behandlungsabschnitt oder vom Behandlungsabschnitt zum Vorratsabschnitt zu transportieren. Der Eingabeabschnitt umfasst ein Benutzerinterface mit mehreren Eingabebutons und einem Display. Über die Eingabebutons kann der Benutzer die den Behandlungsprozess individuell entwerfen.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist von Vorteil, da ein individueller Behandlungsprozesses für die Gewebedünnschnitte erstellt wird. Die Trägeplatte mit den Gewebedünnschnitten ist in einem Behandlungsabschnitt eingesetzt. Das Aufbringen von Flüssigkeitstropfen auf eine Vielzahl von Objektträgern erfolgt mit einer Mehrkanalpipette, von denen jeder mehrere Vertiefungen zur Aufnahme der Flüssigkeitstropfen aufweist. Die Objektträger werden zusammen mit einen für den Objektträger vorgesehenen Transportbehälter in einem ersten Vorrat abgelegt. Für den Behandlungsprozess werden die Objektträger durch einen Transportmechanismus vom ersten Vorrat zu einem Behandlungsabschnitt überführt. Die Transportbehälters werden zusammen mit dem

Objektträger derart durch den Transportmechanismus angehoben, dass die Flüssigkeitstropfen auf dem Objektträger die Gewebedünnschnitte auf der Trägerplatte benetzen. Nach Ablauf der Zeit innerhalb der die Gewebedünnschnitte mit der Behandlungsflüssigkeit benetzt werden müssen, werden die

5 Transportbehälters zusammen mit dem Objektträger zum zweiten Vorrat überführt

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung können den Unteransprüchen entnommen werden.

Die Erfindung wird im folgenden anhand der in den Figuren schematisch dargestellten Beispiele verdeutlicht. Dabei zeigen:

10

Fig. 1: eine perspektivische Ansicht einer Trägerplatte, die Metallnetzchen trägt;

Fig. 2: eine perspektivische Ansicht eines Objektträgers mit Vertiefungen, die mit mindestens einer Behandlungsflüssigkeit gefüllt werden können;

15

Fig. 3: eine schematische Ansicht eines Ausschnitts, der die räumliche Zuordnung der Trägerplatte zum Objektträger visualisiert,

Fig. 4a: eine Draufsicht einer Ausführungsform eines Objektträgers,

Fig. 4b: eine Draufsicht einer weiteren Ausführungsform eines Objektträgers wobei ein Pipette zum aufbringen von Flüssigkeitstropfen ebenfalls mit dargestellt ist;

20

Fig. 5 eine perspektivische Ansicht der gesamten Vorrichtung zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten;

Fig. 6 eine perspektivische Ansicht der gesamten Vorrichtung zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten, bei der einige Gehäuseteile geöffnet sind, um einen Einblick in das Innere der Vorrichtung zu erhalten;

25

- Fig. 7: eine perspektivische Ansicht der gesamten Vorrichtung zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten, bei der einige Gehäuseteile entfernt sind, um einen besseren Einblick in das Innere der Vorrichtung zu erhalten;
- 5 Fig. 8: eine perspektivische Detailansicht des Zusammenwirkens des Transporthalters mit dem Stapel an Transportbehältern im ersten oder zweiten Vorrat;
- Fig. 9: eine perspektivische Detailansicht des Zusammenwirkens des Transporthalters mit einer im Behandlungsabschnitt befindlichen Trägerplatte;
- 10 Fig. 10a: eine perspektivische Draufsicht auf eine Ausführungsform des Transportbehälters;
- Fig. 10b: eine perspektivische Bodenansicht auf eine Ausführungsform des Transportbehälters;
- 15 Fig. 11: eine Schnittansicht des Transportbehälters entlang der in Fig. 10a dargestellten, gestrichelten Linie A-A; und
- Fig. 12 eine schematische Darstellung des Benutzerinterfaces zum Durchführen von Eingaben und gestalten vom Behandlungsprozessen.
- 20 Fig. 1 zeigt eine Trägerplatte 1, die eine Oberseite 1a und eine Unterseite 1b definiert. Auf der Unterseite 1b besitzt die Trägerplatte 1 markierte Positionen, an denen Metallnetzchen 2 mit Gewebedünnschnitten 2a (siehe Fig. 3) positioniert sind. Die Positionen der Metallnetzchen 2 auf der Trägerplatte 1 sind erhöht. Damit wird verhindert, dass beim Kontakt mit den Flüssigkeitstropfen
- 25 Flüssigkeitsbrücken zwischen den einzelnen Metallnetzchen 2 entstehen. An der Oberseite 1a der Trägerplatte 1 befinden sich entgegengesetzt zu den Positionen der Metallnetzchen 2 Bohrungen 3a (siehe Fig. 3), in denen Magnete 3, wie z. B. Permanentmagnete, stecken. Sie bewirken, dass die Metallnetzchen 2 auf der Unterseite 1b der Trägerplatte 1 durch magnetische Kraft
- 30 auf ihrem Platz gehalten werden. Der Abstand zwischen Metallnetzchen 2 und Magnet 3 soll möglichst gering (Abstand < 2 mm) gehalten werden. Die Trä-



- gerplatte 1 besteht vorzugsweise aus formstabilem, nicht magnetischen Material, vorzugsweise aus Aluminium, Messing, faserverstärkte Kunststoffe und ist vorteilhafter weise auf der Unterseite 1b, die die Metallnetzchen 2 trägt, hydrophob beschichtet (z.B. mit einer Teflondruckbeschichtung). Es ist für
- 5 einen Fachmann selbstverständlich, dass für Form der Trägerplatte 1, sowie die Anordnung der Metallnetzchen 2 auf der Trägerplatte 1 zahlreiche Ausführungsformen möglich sind. In der hier dargestellten Ausführungsform sind auf einer rechteckigen Platte mit den Maßen ca. 76 X 26mm (3 X 1 Inch; Objektträgergröße) beispielsweise 10 x 3 Metallnetzchen 2 untergebracht, die einen
- 10 Durchmesser von 3 mm aufweisen. Entscheidend ist, dass die Positionen der Metallnetzchen 2 auf der Unterseite 1b der Trägerplatte 1 den Bohrungen für die Magnete 3 auf der Oberseite 1a der Trägerplatte 1 gegenüberliegen und vorzugsweise auch den Positionen mindestens eines Flüssigkeitstropfens 6 auf der Oberseite 4a eines Objektträgers 4 (siehe Fig. 2) gegenüberliegen.
- 15 In einem weiteren Ausführungsbeispiel werden die Metallnetzchen 2 auf der Unterseite 1b der Trägerplatte 1 durch Elektromagnete (nicht dargestellt) gehalten.

- Fig. 2 zeigt eine perspektivische Ansicht des erfindungsgemäßen Objektträgers 4, der eine Oberseite 4a und eine Unterseite 4b definiert. Der Objektträger 4 besitzt auf der Oberseite 4a mehrere Vertiefungen 5 (so genannte „wells“), die in der gezeigten Ausführungsform in Reihe angeordnet und mit jeweils einem Flüssigkeitstropfen 6 gefüllt sind. Der Flüssigkeitstropfen 6 besteht aus einer Wasch- oder Behandlungslösung wie sie im Stand der Technik offenbart ist. Es ist vorgesehen, dass sich in den einzelnen Vertiefungen 5
- 20 auch unterschiedliche Flüssigkeiten befinden (z.B. eine Reihe von Vertiefungen 5 gefüllt mit Waschlösung, die nächste Reihe von Vertiefungen 5 gefüllt mit Markierungslösungen mit verschiedenen Antikörpern). Der Objektträger 4 ist vorteilhafter weise transparent und besteht aus formstabilem Material.
- 25 Vorzugsweise ist der Objektträger 4 aus Glas oder Kunststoff und ist auf der Oberseite 4a, die die Vertiefungen 5 trägt, und in den Vertiefungen 5 selber hydrophob beschichtet (z.B. mit einer Teflondruckbeschichtung 5a). Die Vertiefung 5 ist identisch mit der Dicke D (siehe Fig. 3) der Teflonbeschichtung 5a. Die Vertiefung 5 beträgt vorzugsweise etwa 50µm. Die Vertiefungen 5
- 30

tragen Flüssigkeitstropfen 6 mit einem Volumen, das sich zwischen 50µl und 5µl bewegt. Bei Waschlösung ist das Volumen der Flüssigkeitstropfen 6 größer als das Volumen der Flüssigkeitstropfen, die Antikörper und/oder Gold enthalten. Der Grund für das reduzierte Volumen bei Antikörpern bzw. Goldlösung ist, dass die Kosten für diese Art von Lösungen hoch ist. Die Teflon-  
5 druckbeschichtung ist für verschiedene Tropfengrößen gleich. Durch die hydrophobe Randschicht wölben sich die Flüssigkeitstropfen 6 mehr oder weniger nach oben. Um die Netzchen mit diesen Tropfen in Berührung zu bringen, ist es für den Ablauf unbedingt notwendig die Tropfengröße zu kennen, da die  
10 Tropfengröße eine unterschiedliche Position für die Absenkbewegung der Metallnetzchen 2 ergibt.

Die räumliche Beziehung des Objektträgers 4 und der Trägerplatte 1 zueinander sind in Fig. 3 als Teilansicht im Querschnitt dargestellt. Die Teilansicht des Querschnitts ist z.B. in Fig. 2 durch die gestrichelte Linie 32 definiert. In dem  
15 hier gezeigten Ausführungsbeispiel ist auf dem Objektträger 4 eine hydrophobe Beschichtung 5a aufgebracht, die eine Dicke D aufweist. In der Trägerplatte 1 sind Bohrungen 3a für Magnete 3 vorgesehen. Auf der Unterseite 1b der Trägerplatte 1 sind an markierten Positionen Proben bzw. Gewebedünnschnitte 2a vorgesehen. An dem Gewebedünnschnitt 2a schließt sich jeweils  
20 ein Metallnetzchen 2 an. Das Metallnetzchen 2 und somit auch der Gewebedünnschnitt 2a werden durch die zugeordneten Magnete 3 in Positionen gehalten. Die gestrichelt-gepunktete Linie 29 in Fig. 1 und Fig. 3 verdeutlicht, dass die Trägerplatte 1 und der Objektträger 4 derart angeordnet sind, dass jeweils ein Gewebedünnschnitt 2a mit dem Metallnetzchen 2 einer Vertiefung  
25 5 auf dem Objektträger 4 gegenüberliegt.

Fig. 4a zeigt eine Ausführungsform eines Objektträgers, der bei der Erfindung Verwendung findet. Zur Kennzeichnung besitzt der Objektträger 4 vorteilhafterweise eine Kennzeichnung, wie es z.B. in dem Gebrauchsmuster DE 299 06 382 U1 dargestellt ist. Die Kennzeichnung 4c ist auf der Oberfläche 4a des  
30 Objektträgers 4 angebracht und kann in Form eines Barcodes, Transponders oder eines Chips ausgestaltet sein. Dem Fachmann ist ersichtlich, dass es die für Größe und Form des Objektträgers 4, sowie die Anordnung der Vertiefungen 5 auf der Oberseite 4a des Objektträgers 4 zahlreiche Ausführungsmög-

lichkeiten gibt. Eine weitere Ausführungsform des Objektträgers 4 ist in Fig. 4b dargestellt. Auf einer rechteckigen Fläche des Objektträgers 4 mit den Maßen 76 mm x 26 mm sind in der Teflonbeschichtung des Objektträgers 8 x 3 Vertiefungen 5 mit einem Durchmesser von 2 mm bis 3 mm enthalten. Zur Protokollierung ist jeder Vertiefung 5 eine Nummer 81 zugeordnet. Ebenso ist in Fig. 4b eine Mehrkanalpipette 80 dargestellt, mit der ein definiertes Aufbringen der Flüssigkeitstropfen 6 auf dem Objektträger 4 ermöglicht ist. Hinzu kommt, dass mit der Mehrkanalpipette 80, das benötigte Flüssigkeitsvolumen sehr genau eingestellt werden kann und das Aufbringen der Flüssigkeitstropfen 6 auf den Objektträger ist besonders effektiv. Da der Objektträger 4 drei Reihen zu je acht Vertiefungen 5 besitzt, weist die Mehrkanalpipette 80 ebenfalls acht einzelne Kanäle 82 auf, entsprechend den Vertiefungen 5 auf dem Objektträger 4 beabstandet sind.

Fig. 5 zeigt eine perspektivische Ansicht der gesamten Vorrichtung 10 zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten. Die Vorrichtung 10 ist derart ausgestaltet, dass alle Prozesse und Transportvorgänge, die im Inneren der Vorrichtung ablaufen gegenüber der Umgebung abgeschlossen sind. Die Vorrichtung ist im Wesentlichen aus einem Eingabeabschnitt 12, einem Vorratsabschnitt 14 und einem Behandlungsabschnitt 16 aufgebaut. Hinzu kommt, dass die Vorrichtung die zur Steuerung und Regelung notwendige Elektronik und Software umfasst. Der Eingabeabschnitt 12 umfasst ein Benutzerinterface 22 mit mehreren Eingabebutts 13 und ein Display 11 (genauere Beschreibung hierzu siehe Beschreibung zu Fig. 11). Über die Eingabebutt 13 kann der Benutzer ein individuelles Protokoll zur Behandlung der Gewebedünnschnitte erstellen. Auf dem Display 11 erhält der Benutzer zu seinen Eingaben eine Rückmeldung oder er kann den Prozessstand im Innern der Vorrichtung 10 ablesen. Der Vorratsabschnitt 14 besitzt eine erste und einer zweite Tür 15a und 15 b, über die der Benutzer die Vorrichtung 10 mit Objektträgern 4, die mehrere Flüssigkeitstropfen 6 tragen, beschicken oder die durch den Prozess verbrauchten Objektträger 4 entnehmen kann. Über die erste Tür 15a können die Objektträger 4, die zum Transport jeweils einzeln in einem Transportbehälter (siehe Fig. 10) angeordnet sind, in den Vorratsabschnitt 14 eingeführt werden. Über die zweite Tür 15b können die verbrauch-

ten Objektträger 4, die jeweils einzeln in einem Transportbehälter angeordnet sind, aus dem Vorratsabschnitt 14 entnommen werden. Jede Tür 15a und 15b kann mit einem Griff 17 geöffnet bzw. geschlossen werden. Mehrere Füße 18 sind an der Vorrichtung 10 vorgesehen, um die Vorrichtung 10 von einer Aufstellfläche zu beabstanden.

Fig. 6 zeigt eine perspektivische Ansicht der gesamten Vorrichtung 10 zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten, bei der die erste Tür 15a des Vorratsabschnitts 14 und eine Abdeckung 19 des Behandlungsabschnitts 16 geöffnet sind, um einen Einblick in das Innere der Vorrichtung 10 zu erhalten. Hinter der ersten Tür 15a des Vorratsabschnitts 14 ist ein erster Vorrat 20 von mehreren Transportbehältern 40 vorgesehen. In jedem der Transportbehälter 40 ist ein Objektträger 4 mit jeweils mehreren Flüssigkeitstropfen vorgesehen, die für die Behandlung der Gewebeschnitte im Behandlungsabschnitt 16 zugeführt werden. Im Behandlungsabschnitt 16 ist eine Stainingeinheit 25 vorgesehen. In der Stainingeinheit 25 wird die Trägerplatte 1 mit den Gewebeschnitten nacheinander mit verschiedenen Objektträgern 4 in Kontakt gebracht. Die Objektträger 4 werden nach einem individuellen Protokoll zu der Stainingeinheit 25 transportiert und die Kontaktdauer mit den Gewebeschnitten bestimmt sich ebenfalls nach dem individuellen Protokoll.

Fig. 7 zeigt eine perspektivische Ansicht der gesamten Vorrichtung 10 zur Immunmarkierung von Gewebedünnschnitten, bei der das Gehäuse für den Vorratsabschnitt 14 und die schwenkbare Abdeckung 19 des Behandlungsabschnitts 16 entfernt sind. Der Vorratsabschnitts 14 umfasst einen ersten Vorrat 20 und einen zweiten Vorrat 21. Wie bereits erwähnt, sind im ersten Vorrat 20 die Transportbehälter 40 mit Objektträgern 4 vor dem Kontakt mit den Gewebeschnitten untergebracht. Dem zweiten Vorrat 21 werden die Transportbehälter 40 mit den Objektträgern 4 zugeführt, nachdem diese mit dem Gewebeschnitt in Kontakt waren. Der erste und der zweite Vorrat 20 und 21 sind aus einer ersten, zweiten und dritten Schiene 24a, 24b und 24c gebildet, die parallel zueinander sind. Die erste und die zweite Schiene 24a und 24b sind die Endpunkte der Schiene eines gleichschenkligen Dreiecks. Die dritte Schiene ist 24c die Spitze des gleichschenkligen Dreiecks. Die erste, zweite und dritte Schiene 24a, 24b und 24c dienen als Führung für die Transportbe-

hälter 40. Die Schienen 24a, 24b, 24c sind an ihrem oberen Ende in einer gemeinsamen Platte 26 befestigt. Diese Platte 26 begrenzt somit die Stapelhöhe der Transportbehälter 40. Am unteren Ende der Schienen 24a, 24b, 24c werden die Stapel von Transportbehältern 40 durch jeweils eine Zange 28 gehalten. Jeder Zange 28 ist ein Motor 29 zugeordnet, der die Zange 28 öffnet und schließt.

Die Vorrichtung 10 besitzt eine Versorgungseinheit 30. Auf der Versorgungseinheit 30 ist der Vorratsabschnitt 14 und der Behandlungsabschnitt 16 angeordnet. In der Versorgungseinheit 30 werden die Transportbehälter 40 vom ersten Vorrat 20 zu der Behandlungsabschnitt 16 und vom Behandlungsabschnitt 16 zum zweiten Vorrat 21 transportiert. In der Versorgungseinheit 30 ist mindestens ein Motor 31 und ein Transportmittel 32 vorgesehen, der den Transport der Transportbehälter 40 zu dem verschiedenen Einheiten bewerkstelligt. Das Transportmittel 32 kann z.B. in Form eines Zahnriemens ausgebildet sein.

Im Behandlungsabschnitt 16 ist eine Trägerplatte 1 vorgesehen. Die Trägerplatte 1 ist in einem Halter 35 einsetzbar, mit dem zusammen die Trägerplatte 1 in einen Arm 36 des Behandlungsabschnitts 16 einschiebbar ist. Die Versorgungseinheit 30 weist einen Versorgungskanal 33 auf, der unterhalb der im Arm 36 gehaltenen Trägerplatte 1 und dem ersten und zweiten Vorrat 20 und 21 verläuft. Im Versorgungskanal 33 ist Transporthalter 34 zwischen dem ersten und zweiten Vorrat 20 und 21 und dem Behandlungsabschnitt 16 hin und her bewegbar.

In Fig. 8 ist eine perspektivische Detailansicht des Zusammenwirkens des Transporthalters 34 mit dem Stapel aus Transportbehältern 40 im ersten oder zweiten Vorrat 20 und 21 dargestellt. Wie bereits in Fig. 6 erwähnt, wird der Stapel von Transportbehältern 40 mittels einer Zange 28 gehalten. Die Zange 28 verhindert, dass der Stapel aus Transportbehältern 40 nach unten in den Versorgungskanal 33 durchfällt. In der in Fig. 7 gezeigten Darstellung befindet sich der Transporthalter 34 direkt unter dem Stapel. Der Transporthalter 34 ist am Transportmechanismus 42 (hier nicht im Detail dargestellt) mit einem Winkel 43 befestigt. In dem auf den Transporthalter 34 aufliegenden Trans-

portbehälter 40 befindet sich ein Objektträger 4. Auf dem Objektträger 4 befinden sich mehrere Flüssigkeitstropfen 6. In den hier gezeigten und bevorzugten Ausführungsbeispiel sind 3 x 8 Flüssigkeitstropfen 6 auf dem Objektträger 4 angeordnet. Der unterste Transportbehälter 40 wird von der Zange 5 28 derart gehalten, dass die Zange 28 in mindestens eine Ausformung 41 an jeder Seite des Transportbehälters 40 eingreift und diesen hält. Die Zange 28 hat mindestens eine Nase 28a ausgeformt, die in die entsprechende Ausformung 41 am Transportbehälter 40 eingreift.

Fig. 9 zeigt eine perspektivische Detailansicht des Zusammenwirkens des 10 Transporthalters 34 mit einer im Behandlungsabschnitt 16 befindlichen Trägerplatte 1. Der Transportmechanismus 42 und der Winkel 43 zur Halterung des Transporthalters 34 für den Transportbehälters 40 sind gestrichelt dargestellt. Am Transporthalter 34 aufliegenden befindet sich ein Objektträger 4. Die Positionen der Flüssigkeitstropfen 6 auf dem im Transportbehälter 40 be- 15 findlichen Objektträger 4 entsprechen den Positionen der Metallnetzchen 2 auf der Trägerplatte 1 (siehe Fig. 1). Die Trägerplatte 1 ist im Behandlungsabschnitt 16 durch den Halter 35, der am Arm 36 des Behandlungsabschnitts 16 befestigt ist gehalten. Der Halter 35 besitzt zwei Griffmulden 37, die zum Einführen und/oder Entnehmen des Halters aus dem Arm 36 des Behand- 20 lungsabschnitts 16 dienen. Der Behandlungsabschnitt umfasst Mittel (nicht dargestellt, die von oben die Trägerplatte parallel und seitlich zentrieren, so dass die Positionen von Metallnetzchen 2 und der Flüssigkeitstropfen 6 übereinstimmen. Durch den Transportmechanismus 42 wird der Objektträger 4 an die Trägerplatte 1 angenähert. Bei einem bestimmten geringen Abstand zwi- 25 schen dem Objektträger 4 und der Trägerplatte 1 benetzen die Flüssigkeitstropfen 6 auf der Trägerplatte 1 die Metallnetzchen 6 zusammen mit den Gewebeschnitten. Diese Position wird für eine bestimmte Zeit konstant gehalten, wobei sich die Zeit aus dem vom Benutzer gestalteten Behandlungsprozess richtet. Der Abstand zwischen der Trägerplatte 1 und dem Objektträger 4 ist 30 vom Volumen der Flüssigkeitstropfen 6 abhängig. Unterschiedliche Volumina für die Flüssigkeitstropfen sind sinnvoll, weil zum einen Waschtropfen, um eine gute Reinigungswirkung zu erzielen, möglichst groß sein sollen, zum anderen weil Markierungslösungen mit Antikörpern sehr teuer sind und das

Volumen daher möglichst gering gehalten wird. Der Transportmechanismus 42 kann eine Linearführung mit einem Antrieb durch einem Schrittmotor 45 und Positionssensoren umfassen. Um den genauen Abstand zwischen der Trägerplatte 1 und dem Objektträger 6 zu gewährleisten, ist ein Sensor 44  
5 vorgesehen, der den Abstand der Trägerplatte 1 zum Objektträger 4 misst. Die Flüssigkeitstropfen 6 werden mit einer Pipette dosiert, so dass deren Volumen genau bestimmt ist.

Eine perspektivische Draufsicht auf eine Ausführungsform des Transportbehälters 40 ist in Fig. 10a dargestellt. Der Transportbehälter 40 ist in Form von  
10 einer Wanne ausgebildet, die aus einer umlaufenden Wandung 49 besteht, die durch einen Boden 50 abgeschlossen ist. Der Transportbehälter 40 ist aus einem formstabilen Material gefertigt. In der Regel wird der Transportbehälter 40 mit einem Spritzgießverfahren gefertigt. Andere Fertigungsverfahren, wie z.B. Fräsen, sind auch denkbar aber das Spritzgießen ist am kostengünstigsten.  
15 Das Material aus dem der Transportbehälters 40 ist, ist ein geeignetes Polymermaterial (z. B. RYTON BR 111 BL der Firma Chevron Phillips Chemical Company). Die Wandung 49 besitzt eine Stirnwand 51 und eine Rückwand 52, die beide über eine linke und rechte Seitenwand 53 und 54 miteinander verbunden sind. Die Stirnwand 51 und die Rückwand 52 bilden mit der linken und der rechten Seitenwand 53 und 54 je einen rechten Winkel. Die  
20 Wandung 49 hat nach Innen hin eine umlaufende erste Stufe 55, eine umlaufende zweite Stufe 56 und eine umlaufende dritte Stufe 57 ausgebildet. Auf der ersten Stufe 55 liegt der nächste Transportbehälter 40 (siehe Fig. 7) mit seinem Boden 50 auf. Somit bildet der Boden 50 des einen Transportbehälter  
25 40 gleichzeitig einen Deckel für den nächsten darunter liegenden Transportbehälter 40. Auf der dritten Stufe 57 liegt der Objektträger 6 auf und wird gleichzeitig durch den Rand der zweiten Stufe 56 in seiner Lage fixiert. Der Boden 50 des Transportbehälters 40 hat eine erste und eine zweite Erhöhung 58 und 59 ausgebildet, von denen jede eine ebene Abflachung 60 besitzt. Die  
30 Abflachung 60 befindet sich auf der Höhe der dritten Stufe 57, so dass die Erhöhungen als Unterstützung des Objektträgers 4 dienen. Die erste Erhöhung 58 ist rund ausgebildet. Die zweite Erhöhung 59 ist oval ausgebildet. Ferner kann auf den Boden 50 des Transportbehälters 40 ein Feuchtigkeit

abgebenden Mittel (nicht dargestellt in Fig. 10a) gelegt werden. Die linke und die rechte Seitenwand 53 und 54 haben jeweils eine Ausformung 61 ausgebildet. Im Bereich der Ausformung liegt der Objektträger 4 nicht vollständig an der linken und rechten Seitenwand 53 und 54 an, so dass z.B. Feuchtigkeit vom Feuchtigkeit abgebenden Mittel am Boden 50 des Transportbehälters 40 zur Oberfläche des Objektträgers 4 gelangen kann, die die Flüssigkeitstropfen 6 trägt (siehe Fig. 11). Ebenso erleichtern die Ausformungen 61 das Entnehmen der Objektträger 4 aus den Transportbehältern 40. Die linke und die rechte Seitenwand 53 und 54 des Transportbehälters 40 besitzt im Bereich dessen Stirnwand 51 zwei Griffmulden 62, die die Handhabung des Transportbehälters 40 für den Benutzer erleichtert. Die Rückwand 52 des Transportbehälters 40 hat zwei parallele Nasen 63 ausgeformt. Die Nasen 63 sind derart ausgebildet, dass diese auf beiden Seiten der dritten Schiene 24c (siehe Fig. 7) des ersten und zweiten Vorrats 20 und 21 liegen und somit eine Führung des Stapels an Transportbehältern 40 darstellen.

Fig. 10b zeigt eine perspektivische Bodenansicht der in Fig. 10a dargestellten Ausführungsform des Transportbehälters 40. Die erste und eine zweite Erhöhung 58 und 59 sind nicht massiv ausgebildet. Die erste Erhöhung 58 besitzt eine Vertiefung mit einem Querschnitt in der Form eines Kreises 58a. Die zweite Erhöhung 59 besitzt eine Vertiefung mit einem Querschnitt in der Form eines Langloches 59a. Beide Vertiefungen enden im Bereich der ebenen Abflachung 60. Die Vertiefungen dienen zum Positionieren des Transportbehälters 40 auf dem Transporthalter 34. Hierzu sind auf dem Transporthalter 34 zwei Pins (nicht dargestellt) ausgeformt, die den Transportbehälter 40 auf dem Transporthalter 34 positionieren, indem die Pins in die Vertiefungen eingreifen.

Fig. 11 ist eine Schnittansicht des Transportbehälter 40 entlang der in Fig. 10a dargestellten gestrichelten Linie A-A. Es ist klar zu erkennen, dass die dritte Stufe 57 auf dem gleichen Niveau liegt wie die Abflachung 60 der ersten und der zweiten Erhöhung 58 und 59. Wie bereits in der Beschreibung zu Fig. 10a erwähnt, ist auf dem Boden 50 des Transportbehälters 40 ein Feuchtigkeit abgebendes Mittel 64 vorgesehen, so dass durch die Feuchtigkeit ein Austrocknen der Flüssigkeitstropfen 6 (siehe Fig. 9) verhindert ist.



Fig. 12 ist eine schematische Darstellung des Benutzerinterfaces 22 zum Durchführen von Eingaben und Gestalten vom individuellen Behandlungsprozessen. Die Eingabebuttns 13 ermöglichen dem Benutzer das individuelle des Behandlungsprozesses, der nachstehend beschrieben ist.

- 5 Die Folge der Transportbehälter 40 im Stapel, der sich im ersten Vorrat 20 befindet entspricht genau der Reihenfolge der einzelnen Prozessschritte. Dabei ist zu bemerken, dass in den verschiedenen Transportbehältern 40 des Stapels jeweils Objektträger 4 vorgesehen sind, die sich in der Art und der Größe der Flüssigkeitstropfen 6 auf dem Objektträger 4 unterscheiden. Ein
- 10 Objektträger 4 trägt immer Flüssigkeitstropfen 6 der selben Größe und des selben Typs. Die Flüssigkeitstropfen 4, die Reagenzien für das Immunostaining enthalten sind aus Kostengründen in möglichst kleinem Volumen anzuwenden. Zur Durchführung des ersten Prozessschrittes fährt der Transportmechanismus 42 unter den im ersten Vorrat 20 befindlichen Stapel aus
- 15 Transportbehältern 40. Der Transportmechanismus 42, hebt den Stapel an. Die Zange 28, die den Stapel von Transportbehältern 40 hält, wird geöffnet und der Stapel wird abgesenkt. Die Zange 28 schließt erneut beim nächsten Transportbehälter 40. Damit liegt nun ein einzelner offener Transportbehälter 40 auf dem Transportmechanismus 42.
- 20 Dieser Transportbehälter 40 wird bis zum Behandlungsabschnitt 16 verfahren. Dort wird der Transportbehälter 40 angehoben, bis die Flüssigkeitstropfen 6 auf dem Objektträger 4 die Metallnetzchen 2 auf der Trägerplatte 1 kontaktieren. Dieser Abstand zwischen der Trägerplatte 1 und dem Objektträger 4 muss sehr genau eingehalten werden, damit sichergestellt ist, dass zum einen
- 25 alle Flüssigkeitstropfen 6 die Metallnetzchen 2 kontaktieren, zum anderen aber die Flüssigkeit der Flüssigkeitstropfen 6 lediglich die Unterseite der Metallnetzchen 2 berührt. Vorteilhaft ist ein Sensor 44, der den Abstand der Trägerplatte 1 zum Objektträger 4 misst. Die Flüssigkeitstropfen 6 werden mit einer Pipette auf den Objektträger 4, an die dafür vorgesehenen Positionen
- 30 dosiert. Durch Eingabe des Volumens der Flüssigkeitstropfen 6 über die am Eingabeabschnitt 12 vorgesehenen Eingabebuttns 13, werden der elektronischen Steuerung die notwendigen Parameter übergeben, damit der optimale Abstand zwischen den Metallnetzchen 2 und dem Objektträger 4 errechnet

und eingestellt wird.

Der Transportmechanismus 42 führt den Objektträger 4 in die Position unterhalb der im Halter 35 montierten Trägerplatte 1 (siehe Fig. 9). Der Transportmechanismus 42 hebt den Transportbehälter 40 zusammen mit dem Objektträger 4 an, so dass die Flüssigkeitstropfen 6 mit dem Metallnetzchen in der durch die elektronische Steuerung berechneten Art und Weise in Kontakt treten können. Nach Ablauf der, ebenfalls über den Eingabeabschnitt 12, eingestellten Verweilzeit für den jeweiligen Prozessschritt, wird der Transportbehälter 40 abgesenkt, zum zweiten Vorrat 21 verfahren. Im zweiten Vorrat 21 wird ein Stapel aus Transportbehältern 40 aufgebaut, die verbrauchte Objektträger 4 enthalten. Hierzu wird der Stapel im zweiten Vorrat angehoben bis die Zange 28 wieder geschlossen wird und somit den untersten Transportbehälter im Stapel an dem dafür vorgesehenen Ausformungen 41 greift. Der Transportmechanismus 42 wird wiederum abgesenkt und unter den ersten Vorrat verfahren. Zum Start des nächsten Prozessschrittes, wird wie schon beschrieben der nächste Transportbehälter 40 aus dem ersten Vorrat 20 entnommen, In Fig. 7 ist der erste Vorrat 20 fast vollständig mit Transportbehälter 40 gefüllt.

Der Prozess wird bis zum letzten Transportbehälter 40 im ersten Vorrat 20 fortgeführt. Der Ablauf ist durch den Benutzer über den Eingabeabschnitt 12 programmierbar. Für jeden Prozessschritt ist die Verweilzeit und die Größe der Flüssigkeitstropfen 6 ebenfalls über den Eingabeabschnitt 12 einstellbar.

Um das Beladen der Objektträger 4 mit Flüssigkeitstropfen 6 zu erleichtern, wird eine Mehrkanalpipette 80 (siehe Fig. 4b) verwendet. So können mit einer Achtkanal - Pipette gleichzeitig acht Tropfen mit gleichem Volumen auf den Objektträger 4 an die dafür vorgesehenen Positionen platziert werden. Dafür ist notwendig, dass die Abstände die Vertiefungen 5 in der Teflonbeschichtung 5a des Objektträgers 4 mit den Abständen der Pipettenspitzen übereinstimmen. Damit wird auch dieser Vorgang des Aufbringens der Flüssigkeitstropfen 6 wesentlich vereinfacht. Nummerierungen auf der Teflonbeschichtung 5a des Objektträgers 4 und auf der Trägerplatte, gestatten eine eindeutige Zuordnung der Netzchen zu den Flüssigkeitstropfen 6. Dies ist notwendig, da bei manchen Abläufen unterschiedliche Immunmarkierungen angewendet

werden. Verschiedene Reagenzien auf einem Objektträger 4 sind möglich.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung ist so angepasst, dass sie folgende Schritte eines bereits bestehenden Standardprotokolls zur immunologischen Markierung von Gewebedünnschnitten automatisch ausführt:

- 5    Absättigen unspezifischer Bindungen, Antikörper-Inkubation, diverse Waschschr  
     itte mit verschiedenen Waschlösungen.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist einem Fachmann jedoch klar, dass Abwandlungen und Modifikationen durchgeführt werden können, ohne den Schutzbereich der Ansprüche zu verlassen.

10

**Bezugszeichenliste**

	1	Trägerplatte
	1a	Oberseite der Trägerplatte
	1b	Unterseite der Trägerplatte
5	2	Metallnetzchen
	2a	Gewebedünnschnitte
	3	Magnete
	3a	Bohrungen für Magnete
	4	Objektträger
10	4a	Oberseite des Objektträgers
	4b	Unterseite des Objektträgers
	4c	Kennzeichnung am Objektträger
	5	Vertiefungen („wells“)
	5a	Teflonbeschichtung
15	6	Flüssigkeitstropfen
	7	Positionssensoren
	8	vertikale Führungsschiene der Transportvorrichtung
	9	Halterung für Trägerplatte
	10	Vorrichtung
20	11	Display
	12	Eingabeabschnitt

	13	Eingabebuttons
	14	Vorratsabschnitt
	15a	erste Tür
	15b	zweite Tür
5	17	Griff
	18	Füße
	19	Abdeckung
	20	erster Vorrat
	21	zweiter Vorrat
10	22	Benutzerinterface
	24a	erste Schiene
	24b	zweite Schiene
	24c	dritte Schiene
	25	Stainingeinheit
15	26	Platte
	28	Zange
	28a	Nase
	29	Motor
	30	Versorgungseinheit
20	31	Motor
	32	Transportmittel
	33	Versorgungskanal
	34	Transporthalter
	35	Halter
25	36	Arm

	37	Griffmulden
	38	Linie
	40	Transportbehälter
	41	Ausformung
5	42	Transportmechanismus
	43	Winkel
	44	Sensor
	45	Schrittmotor
	49	Wandung
10	50	Boden
	51	Stirnwand
	52	Rückwand
	53	linke Seitenwand
	54	rechte Seitenwand
15	55	umlaufende erste Stufe
	56	umlaufende zweite Stufe
	57	umlaufende dritte Stufe
	58	erste Erhöhung
	59	zweite
20	60	ebene Abflachung
	61	Ausformung
	62	Griffmulden
	63	Nase
	64	Feuchtigkeit abgebendes Mittel
25	80	Mehrkanalpipette

81	Nummer
82	Kanäle
A-A	Schnittlinie



### Patentansprüche

- 5 1) Vorrichtung zur immunologischen Markierung von Gewebedünnschnitten (2a), mit einer Trägerplatte (1), auf der die Gewebedünnschnitte in einem definierten Muster angebracht sind, mit mindestens einem Objektträger (4), auf dem die Behandlungsflüssigkeit in Form von Flüssigkeitstropfen (6) aufgebracht ist und wobei die Anordnung der Flüssigkeitstropfen (6) der Anordnung der Gewebedünnschnitte auf der Trägerplatte (1) entspricht, dadurch gekennzeichnet, dass jeder Objektträger (4) in einem Transportbehälter (40) vorgesehen ist, wobei
- 10 der Transportbehälter (40) in Form von einer Wanne ausgebildet ist, die aus einer umlaufenden Wandung (49) besteht, die durch einen Boden (50) abgeschlossen ist, und dass der Boden (50) eines Transportbehälters den Deckel eines darunter angeordneten Transportbehälters (40) bildet, wobei Transportbehälter (40) in einem ersten und
- 15 einem zweiten Vorrat (20, 21) gestapelt sind.
- 2) Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet dass im ersten Vorrat (20) die Transportbehälter (40) gestapelt sind, die jeweils einen Objektträger (4) tragen, und wobei die Objektträger (4) mit einer Vielzahl von Flüssigkeitstropfen (6) versehen ist.
- 20 3) Vorrichtung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet dass im zweiten Vorrat (21) die Transportbehälter (40) gestapelt sind, die jeweils einen Objektträger (4) tragen, und wobei die Vielzahl von Flüssigkeitstropfen (6) auf dem Objektträger (4) bereits durch einen Behandlungsschritt verbraucht ist.



- 5 4) Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet dass im ersten Vorrat (20) und im zweiten Vorrat (21) der jeweils oberste Transportbehälter (40) mit keinem Objektträger versehen ist, und dass der Boden (50) dieses Transportbehälters ausschließlich den Deckel für den folgenden Transportbehälter (40) im ersten oder zweiten Vorrat (20, 21) bildet.
- 10 5) Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet dass die Vorrichtung aus einem Eingabeabschnitt (12), einem Vorratsabschnitt (14) und einem Behandlungsabschnitt (16) aufgebaut ist, und dass ein Transportmechanismus (42) zwischen dem Vorratsabschnitt (14) und dem Behandlungsabschnitt (16) hin und her fährt, um einen Transportbehälter (40) vom Vorratsabschnitt (14) zum Behandlungsabschnitt (16) oder vom Behandlungsabschnitt (16) zum Vorratsabschnitt (14) zu transportieren.
- 15 6) Vorrichtung gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Transportmechanismus (42) im Behandlungsabschnitt (16) den Transportbehälter (40) derart anhebt, dass die auf dem Objektträger (4) befindlichen Flüssigkeitstropfen (6) die auf der einer Unterseite (1a) der Trägerplatte (1) vorgesehenen Gewebeschnitte benetzt.
- 20 7) Vorrichtung gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Gewebeschnitte an der Unterseite (1a) der Trägerplatte (1) auf Metallnetzchen (2) liegen, die durch in der Trägerplatte (1) vorgesehene Magnete (3) in Position gehalten sind.
- 25 8) Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet dass, der Behandlungsabschnitt (16) aus einem Arm (36) besteht, in dem ein Halter (35) für die Trägerplatte (1) gehalten ist
- 30 9) Vorrichtung gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Halter (35) zwei Griffmulden (37) besitzt, die zum Einführen und/oder Entnehmen des Halters (35) aus dem Arm (36) des Behandlungsabschnitts (16) dienen .

- 10) Vorrichtung gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Eingabeabschnitt (12) ein Benutzerinterface (22) mit mehreren Eingabebuttons (13) und ein Display (11) umfasst.
- 5 11) Vorrichtung gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Vorratsabschnitt (14) über eine erste und eine zweite Tür (15a und 15b) von außen zugänglich ist, wobei hinter der ersten Tür (15a) der erste Vorrat (20) an Transportbehältern (40) angeordnet ist, und dass hinter der zweiten Tür (15b) der zweite Vorrat (21) an Transportbehältern (40) angeordnet ist.
- 10 12) Vorrichtung gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Behandlungsabschnitt 16 eine schwenkbare Abdeckung (19), unter der sich eine Stainingeinheit (25) befindet, in der eine Trägerplatte (1) gehalten ist.
- 15 13) Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der ersten und der zweite Vorrat (20 und 21) aus einer ersten, zweiten und dritten Schiene (24a, 24b und 24c) gebildet sind, die parallel zueinander sind, dass die erste und die zweite Schiene (24a und 24b) die Endpunkte der Basis eines gleichschenkligen Dreiecks sind, dass die dritte Schiene (24c) die Spitze des gleichschenkligen Dreiecks ist, dass die erste, zweite und dritte Schiene (24a, 24b und 24c) als Führung für die Transportbehälter (40) dienen, und dass die Schienen (24a, 24b, 24c) an ihrem oberen Ende in einer gemeinsamen Platte (26) befestigt sind.
- 20 14) Verfahren zur immunologischen Markierung für Gewebedünnschnitte, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:
- 25 a. Erstellen eines individuellen Behandlungsprozesses für die Gewebedünnschnitte (2a), die auf einer Trägeplatte (1) angeordnet sind, die in einem Behandlungsabschnitt (16) eingesetzt ist;

- b. Aufbringen von Flüssigkeitstropfen (6) auf eine Vielzahl von Objektträgern (4), von denen jeder mehrere Vertiefungen (5) zur Aufnahme der Flüssigkeitstropfen (6) aufweist;
- 5 c. Ablegen der Objektträger (4) zusammen mit einen für den Objektträger (4) vorgesehenen Transportbehälter (40) in einem ersten Vorrat (20);
- d. Überführen des Transportbehälters (40) zusammen mit dem Objektträger (4) durch einen Transportmechanismus (42) vom ersten Vorrat (20) zu einem Behandlungsabschnitt (16);
- 10 e. Anheben des Transportbehälters (40) zusammen mit dem Objektträger (4) derart, dass die Flüssigkeitstropfen (6) auf dem Objektträger (4) die Gewebedünnschnitte (2a) auf der Trägerplatte (1) benetzen;
- f. Überführen des Transportbehälters (40) zusammen mit dem Objektträger (4), nach einer durch den individuellen Behandlungsprozess vorbestimmten Zeit, zu einem zweiten Vorrat (21), der verbrauchte Objektträger (6) hält; und
- 15 g. Durchführen der Schritte d bis f bis alle in ersten Vorrat (20) für einen individuellen Behandlungsprozess vorgesehenen Objektträger (4) entnommen worden sind.
- 20 15) Verfahren gemäß Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass die Schritte d bis f vollautomatisch durchgeführt wird.
- 16) Verfahren gemäß Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass das Erstellen des individuellen Behandlungsprozesses über ein im Eingabeabschnitt (12) vorgesehenes Benutzerinterface (22) mittels mehrerer
- 25 Eingabebutons (13) durchgeführt wird.
- 17) Verfahren gemäß Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass die Transportbehälter (40) mit jeweils einen Objektträger (4), die entsprechend dem Behandlungsprozess erforderlich sind, im ersten Vorrat (20) gestapelt werden, wobei der zuerst benötigte Objektträger (4) zu
- 30 unterst im ersten Vorrat (20) angeordnet wird.

- 5 18) Verfahren gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Trägerplatte (1) im Behandlungsabschnitt (16) mittels eines Halters (35) an einem Arm (36) des Behandlungsabschnitts (16) eingesetzt wird, und dass der Halter (35) zwei Griffmulden (37) besitzt, mittels derer der Halter (35) aus dem Arm (36) des Behandlungsabschnitts (16) eingesetzt oder entnommen wird.
- 10 19) Verfahren gemäß Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass beim Anheben des Transportbehälters (40) der erforderliche Abstand zwischen der Trägerplatte (1) und dem Objektträger (6) durch mindestens einen Sensor (44) gemessen wird.
- 15 20) Verfahren gemäß Anspruch 19 dadurch gekennzeichnet, dass das Anheben der Transportbehälter (40) und Einstellen des erforderlichen Abstandes durch den mindestens einen Sensor (44) derart erfolgt, dass im Behandlungsabschnitt (16) die Flüssigkeitstropfen (6) in den Vertiefungen (5) auf einer Oberseite (4a) des Objektträgers (4) exakt den durch Metallnetzchen (2) auf der Unterseite (1b) der Trägerplatte (1) gehaltenen Gewebedünnschnitten (2b) gegenüberliegen und diese benetzen.
- 20 21) Verfahren gemäß Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass für das Überführen des Transportbehälters (40) aus dem ersten Vorrat (20), derart erfolgt, dass der Transportmechanismus (42) dem im ersten Vorrat (20) befindlichen Stapel von Transportbehältern (40) anhebt, wobei eine den Stapel haltende Zange (28) geöffnet wird, und dass der gesamte der Stapel durch den Transportmechanismus (42) abge-  
25 senkt wird, wobei die Zange (28) erneut beim nächsten Transportbehälter (40) geschlossen wird.
- 30 22) Verfahren gemäß Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass für das Überführen des Transportbehälters (40) nach einer durch den individuellen Behandlungsprozess vorbestimmten Zeit, zum zweiten Vorrat (21) derart erfolgt, dass der Transportbehälter (40) durch den Transportmechanismus (42) beim zweiten Vorrat (21) solange angehoben

wird, bis die Zange (28) beim dem nun untersten Transportbehälter (40) im Stapel wieder geschlossen wird und diesen und somit den Stapel aus Transportbehältern (40) hält.

5 23) Verfahren gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeitstropfen (6) auf den Objektträger (4) mit einer Mehrfachpipette (80) aufgebracht werden.

10 24) Verfahren gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass im ersten Vorrat (20) und im zweiten Vorrat (21) der jeweils oberste Transportbehälter (40) keinem Objektträger enthält, und dass der Boden (50) dieses Transportbehälters ausschließlich den Deckel für den folgenden Transportbehälter (40) im ersten oder zweiten Vorrat (20, 21) bildet.

15 25) Verfahren gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Zugang zum Vorratsabschnitt (14) über eine erste und eine zweite Tür (15a und 15 b) von außen ermöglicht wird, wobei hinter der ersten Tür (15a) der erste Vorrat (20) an Transportbehältern (40) angeordnet ist, und dass hinter der zweiten Tür (15b) der zweite Vorrat (21) an Transportbehältern (40) angeordnet ist.

20 26) Verfahren gemäß einem der Ansprüche 14 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass der erste und der zweite Vorrat (20 und 21) aus einer ersten, zweiten und dritten Schiene (24a, 24b und 24c) gebildet sind, die parallel zueinander angeordnet werden, dass die erste und die zweite Schiene (24a und 24b) die Endpunkte der Basis eines gleichschenkligen Dreiecks sind, dass die dritte Schiene (24c) die Spitze des  
25 gleichschenkligen Dreiecks ist, dass die erste, zweite und dritte Schiene (24a, 24b und 24c) als Führung für die Transportbehälter (40) dienen, und dass die Schienen (24a, 24b, 24c) an ihrem oberen Ende in einer gemeinsamen Platte (26) befestigt werden.

### Zusammenfassung

Es ist eine Vorrichtung und ein Verfahren zur immunologischen Markierung von Gewebedünnschnitten (6) offenbart. Auf mindestens einem Objektträger (4) ist die Behandlungsflüssigkeit in Form von Flüssigkeitstropfen (6) aufgebracht, wobei die Anordnung der Flüssigkeitstropfen (6) der Anordnung der Gewebedünnschnitte auf der Trägerplatte (1) entspricht. Jeder Objektträger (4) ist in einem Transportbehälter (40) gehalten, wobei der Transportbehälter (40) in Form von einer Wanne ausgebildet ist, die aus einer umlaufenden Wandung (49) besteht, die durch einen Boden (50) abgeschlossen ist. Der Boden (50) eines Transportbehälters bildet den Deckel eines darunter angeordneten Transportbehälters (40). Die Transportbehälter (40) sind in einem ersten und einem zweiten Vorrat (20, 21) gestapelt.

15

Fig. 6

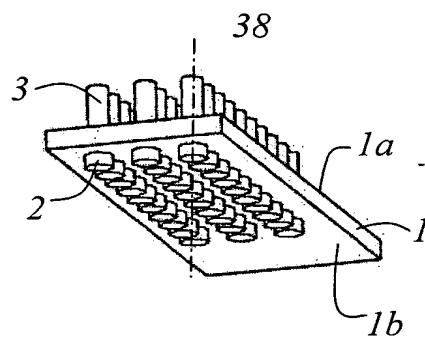


Fig. 1

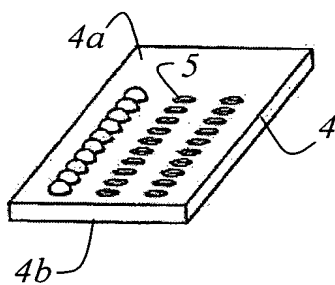


Fig. 2

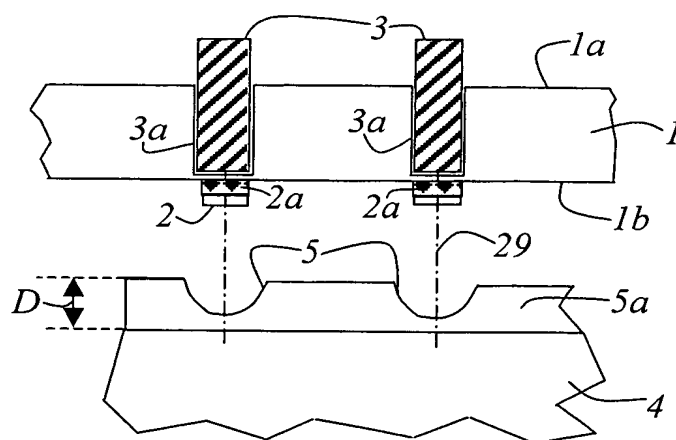


Fig. 3

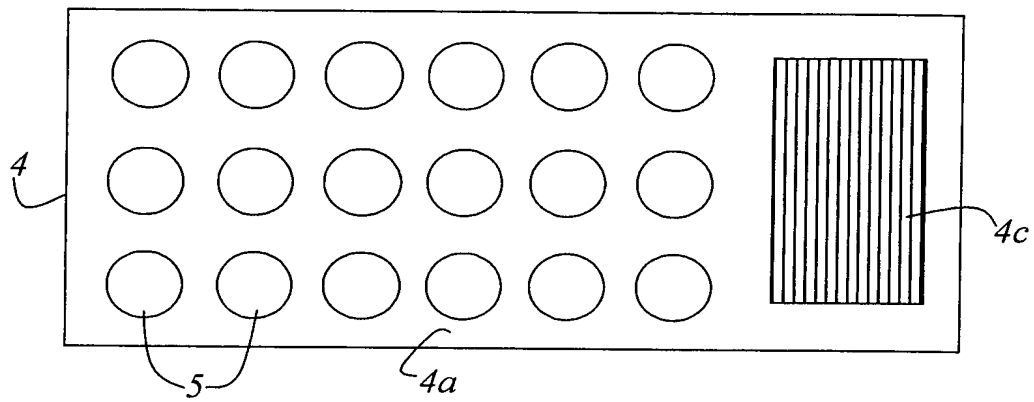


Fig. 4a

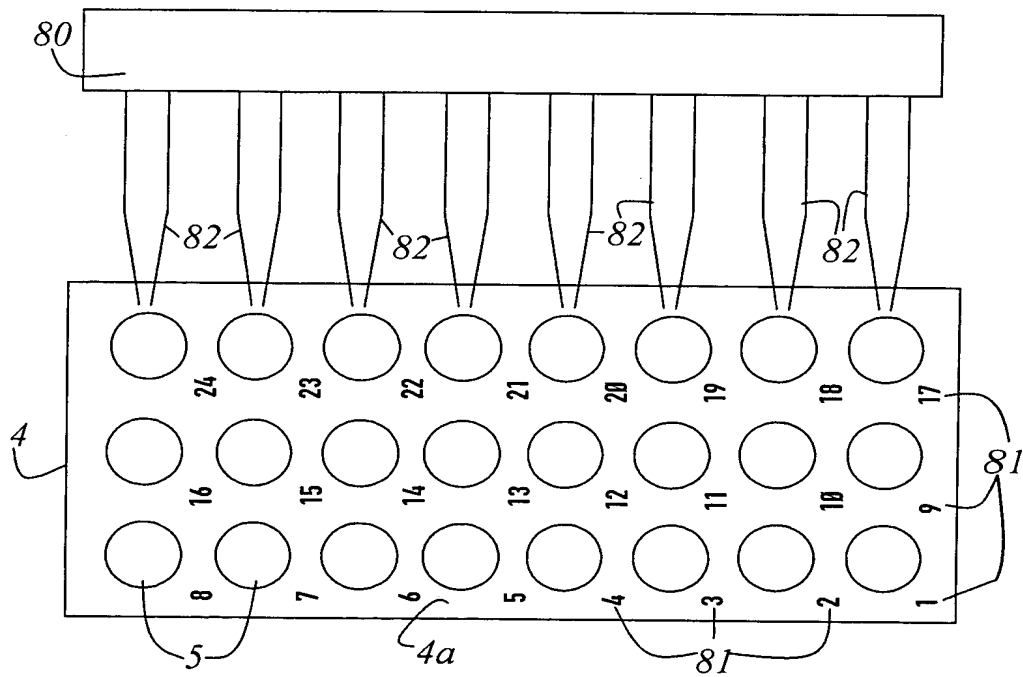
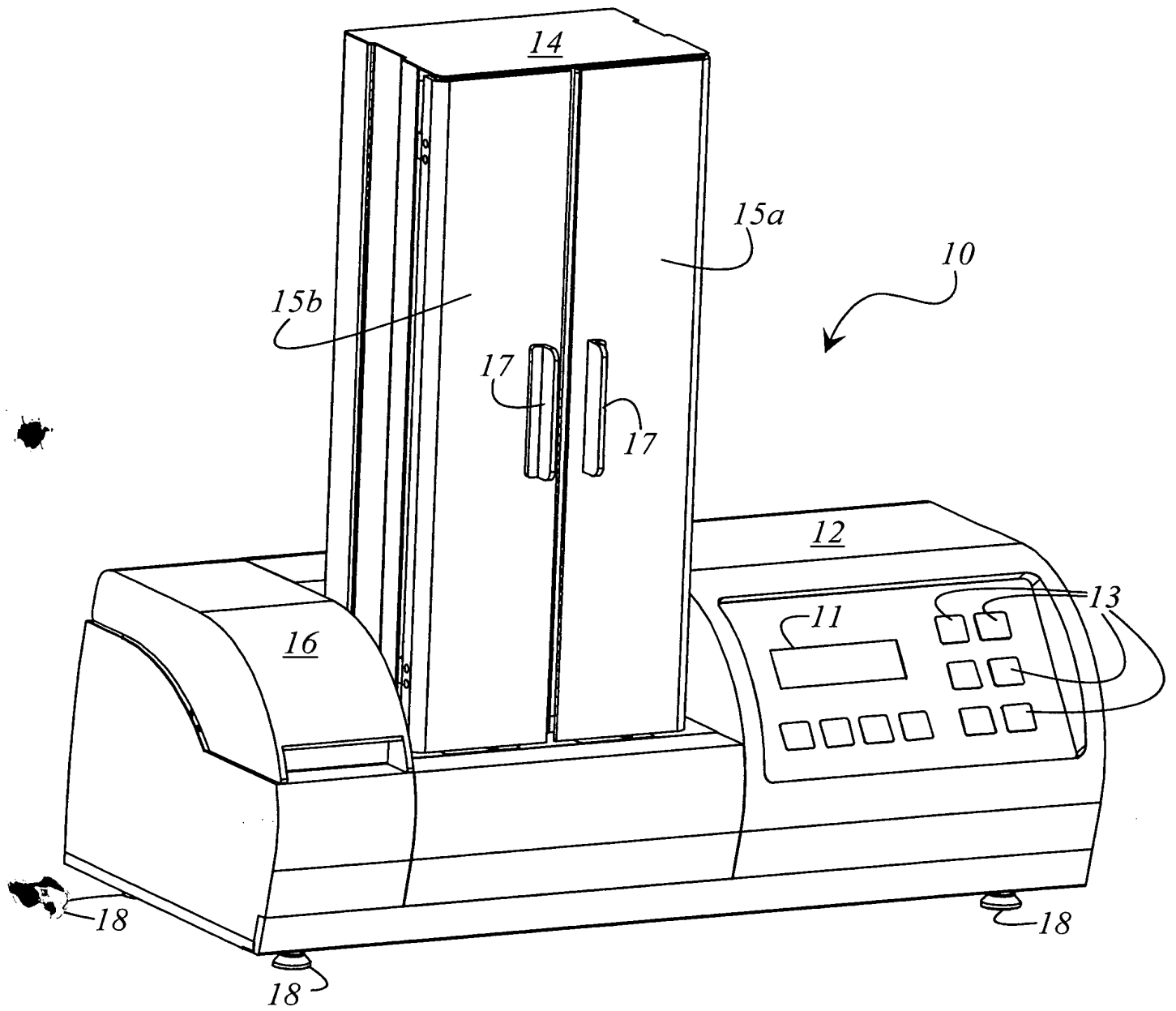
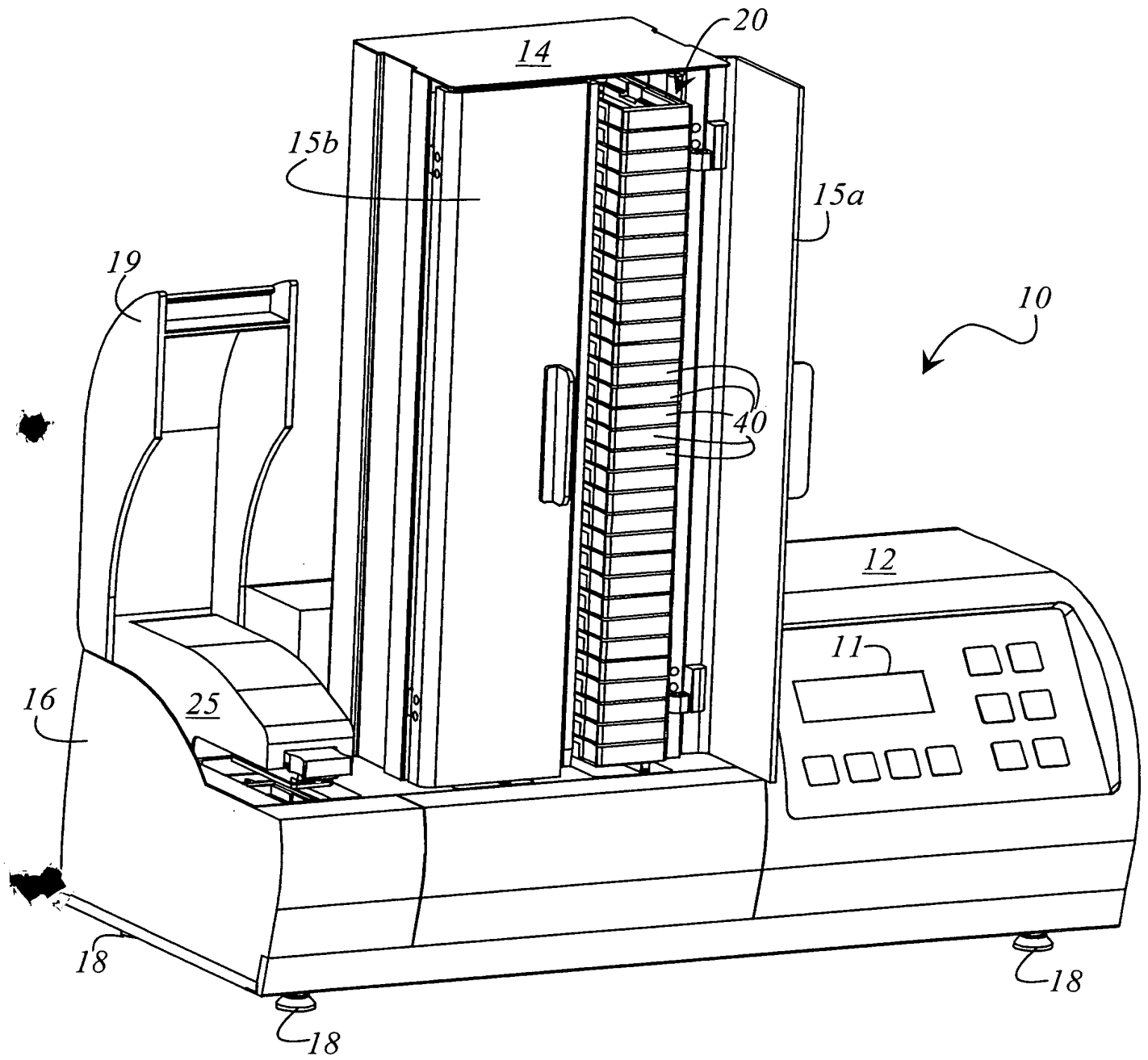
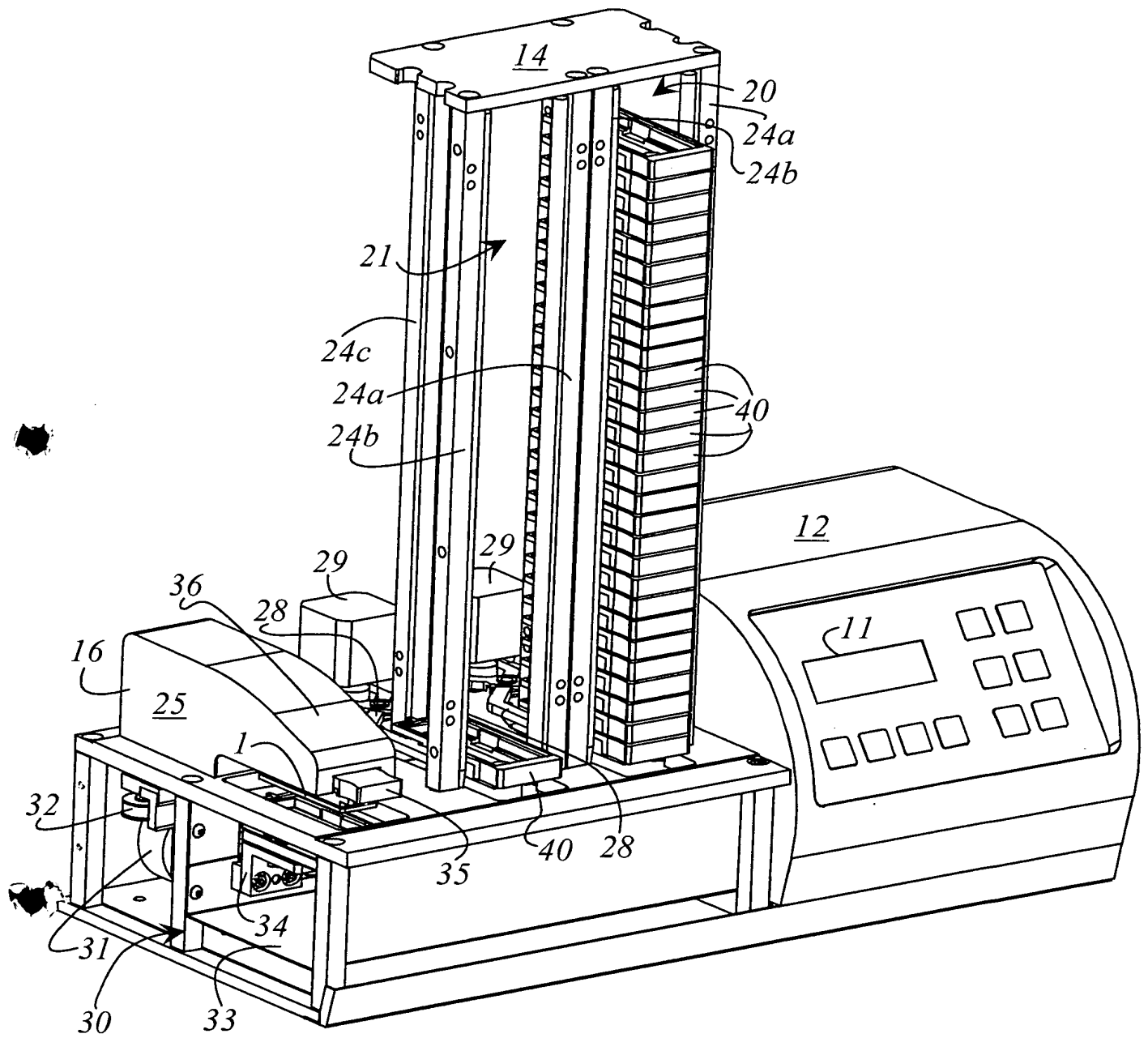


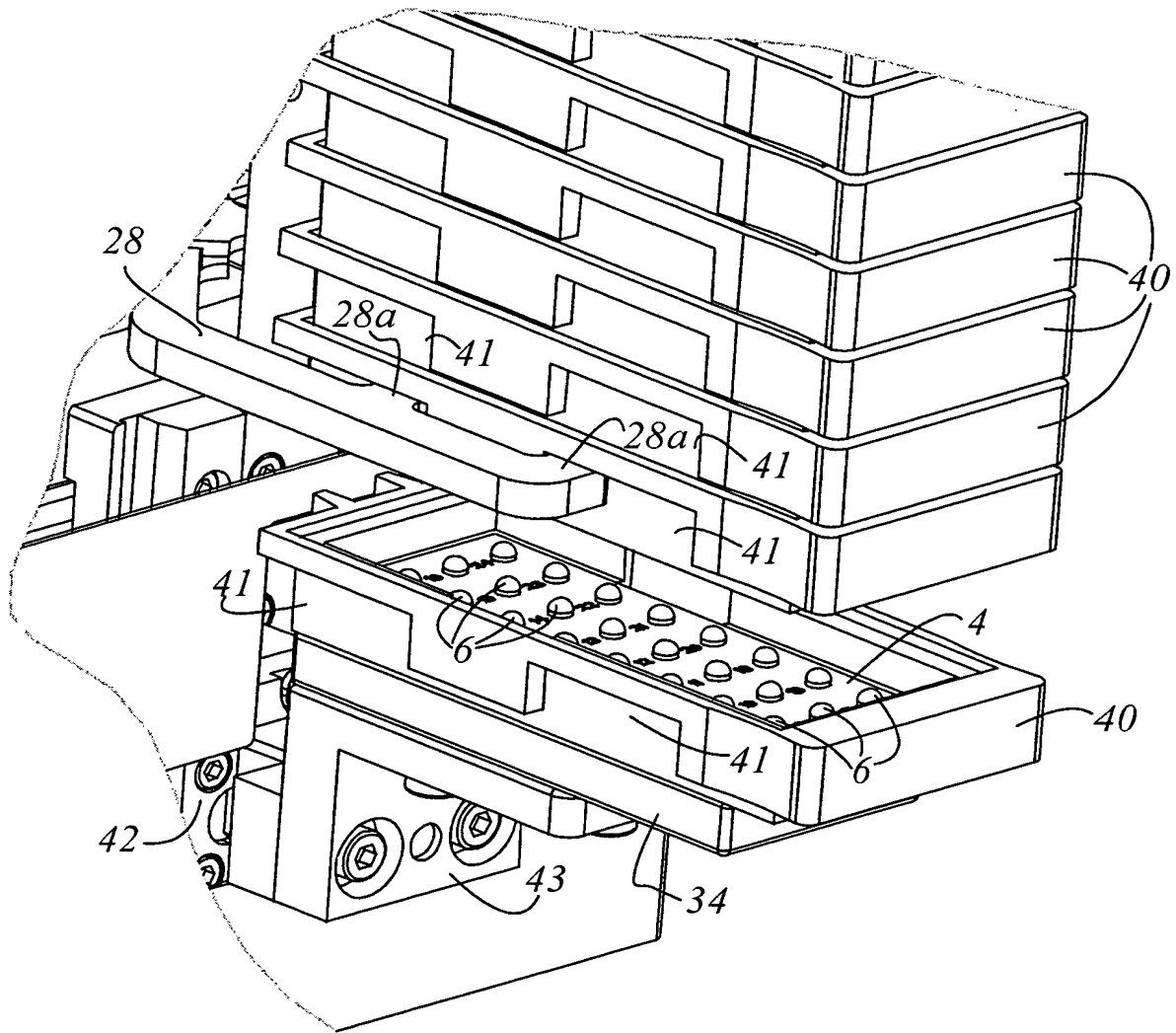
Fig. 4b

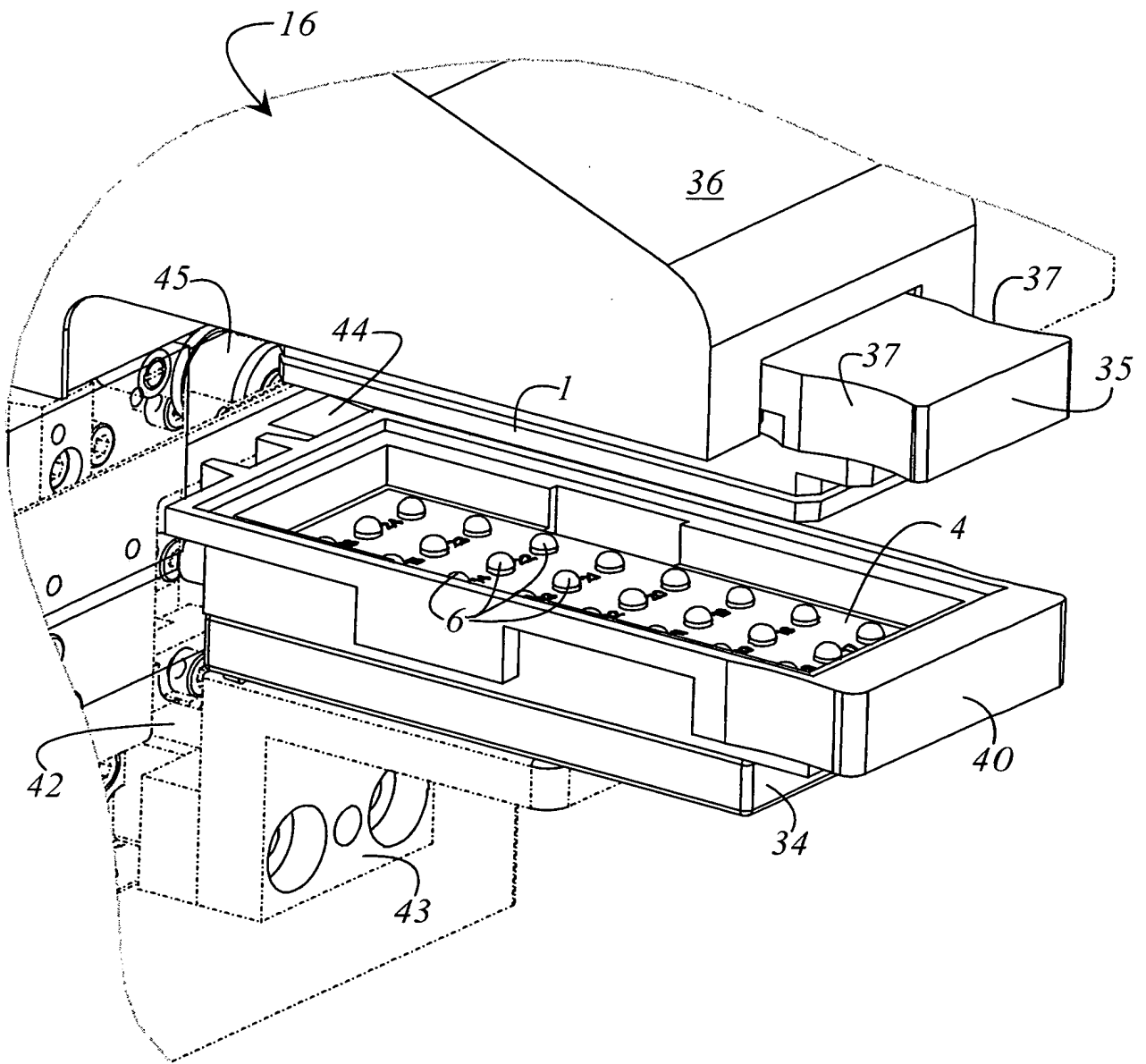


Fig. 5

Fig. 6

Fig.7

Fig.8

Fig. 9

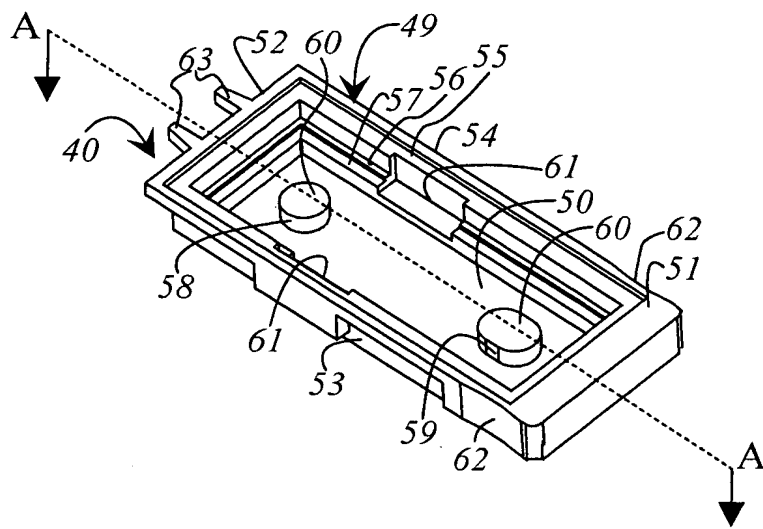


Fig. 10a

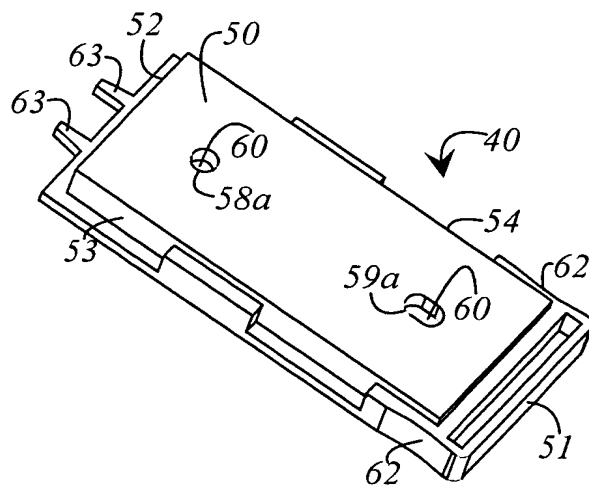


Fig. 10b

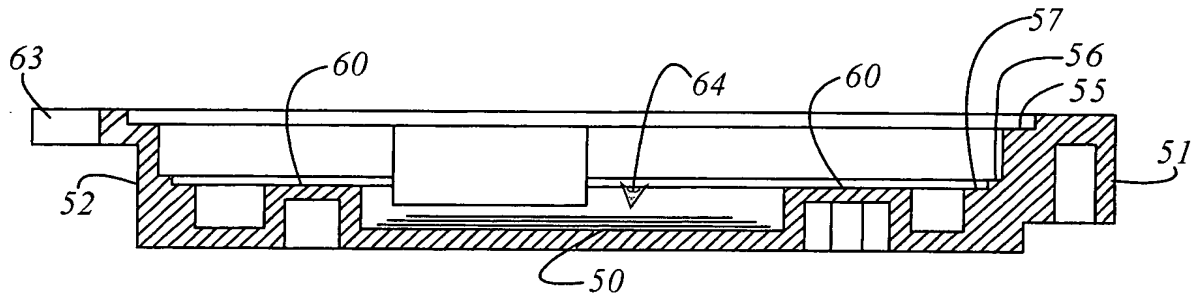


Fig. 11

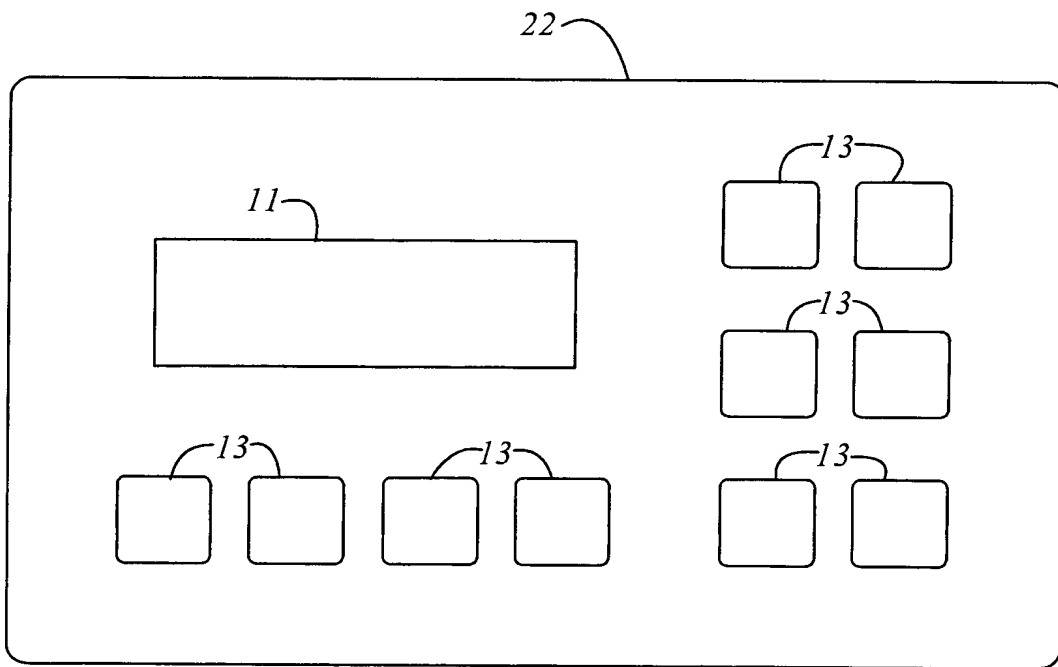


Fig. 12